

(様式11)

## 論文審査の要旨（課程博士）

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 宮浦 千里 (印)

副査 稲田 全規 (印)

副査 田中 剛 (印)

副査 田中あかね (印)

副査 大島登志男 (印)

学 位 申 請 者	平成22年度入学 学籍番号 10702103 氏名 清水 勝
申 請 学 位	博士（生命科学）
論 文 題 目	PTH/PTH アナログによる骨・カルシウム代謝調節の解析

論文審査要旨（2,000 字程度）

副甲状腺ホルモン（Parathyroid Hormone：PTH）は、副甲状腺から分泌されると、骨に作用して骨吸収を促進し、骨からCaを動員するとともに、腎臓に作用してカルシウムの再吸収を促進させ、また腎臓で活性型ビタミンD3の合成を促進して腸管での食事からのカルシウム再吸収を促進する。

またPTHは、皮下投与などの間歇投与を行うと、骨形成を促進して骨量を増加させる一方、PTHのインフュージョンなどの持続投与を行うと、むしろ骨吸収を亢進させ骨量を減少させることが知られている。このPTHについて、以下の点に着目して研究を行った。

1. PTHが骨形成促進作用を示す最適な間歇投与の時間とその骨量増加作用のメカニズム

PTH(1-34)による、骨量を増加させる最適な間歇投与時間について、過去の検討では、臨床で使用されているPTH(1-34)の投与量（0.3～0.4  $\mu\text{g/kg}$ 、血中最大濃度 160～360  $\text{pg/mL}$ ）よりもはるかに高い用量（80  $\mu\text{g/kg}$ 、血中濃度 3,800～18,000  $\text{pg/mL}$ ）での研究が報告されている。このことから、臨床用量に近いPTH(1-34)の低用量（Cmax 約 300  $\text{pg/mL}$  前後）を用いて、骨量を増加させる最適な投与時間の検討を行った。動物モデルとしては、インフュージョンポンプを用いて、ラットを拘束せずに一定時間薬剤を反復投与できるラットインフュージョンモデルを用いて、PTH(1-34)を異なる時間（1、2、4 時間）で反復インフュージョンを行い、その骨代謝と骨量増加効果を検証した。

PTH単回インフュージョンにより誘導される骨関連遺伝子の検索では、c-fos、Wnt4、EphrinB2、RANKLの誘導が高く、骨量を増加させる間歇投与ではこれら遺伝子が一過性に上昇したが、4時間のインフュージョンではこれら遺伝子が4時間まで持続的に上昇していた。

PTH(1-34)を1、2、4時間と、異なる時間で4週間の反復インフュージョン投与を行い、その骨量増加作用を検討した。その結果、PTH(1-34)を1時間のみ反復インフュージョンした場合には、大腿骨骨密度（BMD）の有意な増加が認められたが、2、4時間の反復インフュージョンでは、大腿骨骨密度の有

意な増加は認められなかった。

この違いを検討するため、PTH(1-34)を1時間と4時間で、14日間の反復インフュージョンを行い、骨代謝マーカーの変化を評価した。その結果、PTH(1-34)の1日1時間のインフュージョンでは、骨形成マーカーの PINP (I 型プロコラーゲン N 末ペプチド) 及びオステオカルシンのみが上昇したが、PTH(1-34)の1日4時間のインフュージョンでは、骨形成マーカーのみならず、骨吸収マーカーの尿中 CTx (I 型コラーゲン C-テロペプチド) も上昇した。

以上のことから、PTH(1-34)の臨床に近い用量 (Cmax 300 pg/mL 前後) において、骨形成のみを誘導して骨量を増加させる PTH(1-34)の最適投与時間は1時間であることが明らかとなった。

## 2. 持続型 PTH アナログ (LA-PTH) の副甲状腺機能低下症モデルラットにおける血中カルシウム上昇作用

PTH1 型受容体に持続的に作用する PTH アナログ (Long-Acting PTH : LA-PTH) を使い、内因性 PTH が欠損して血中 Ca が低下する副甲状腺機能低下症を模擬したモデルラット (甲状腺副甲状腺摘出 : TPTX ラット) を用い、その血中 Ca 上昇作用、及び骨代謝への影響を検討した。

TPTX ラットにおいて、静脈内投与した LA-PTH は、PTH(1-34)、PTH(1-84)に比較して強力且つ持続的 (48 時間以上) に血中カルシウムを上昇させた。また、LA-PTH の反復 4 週間投与では、1.8 nmol/kg において、血中カルシウムを治療領域 (約 7.6~10.5 mg/dL) のレベルに 4 週間維持できることが示された。その際、尿中カルシウムは有意に増加せず、また TPTX ラットの BMD を有意に減少させることはなかった。

カニクイザルにおいても、PTH(1-34)、及び PTH(1-84)と比較して、LA-PTH は強力且つ持続的な血中カルシウム上昇作用を示すことが明らかとなった。このことから、LA-PTH は副甲状腺機能低下症に有用なものと考えられた。

以上、本研究から、PTH(1-34)の臨床に近い投与量においては、PTH を使って骨形成を選択的に促進し骨量を増加させるには、1時間の間 PTH を暴露させることが重要であることが明らかとなった。

また、内因性 PTH を欠損させ、低カルシウム血症をきたす副甲状腺機能低下症の治療においては、血中カルシウムを強力に上昇させる持続型 PTH アナログが有用であり、至適投与量を選択すれば、高カルシウム尿症や骨量減少を引き起こさずに、低カルシウム血症を治療できる可能性が示された。